



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37

## ZNANSTVENO MIŠLJENJE

Znanstveno mišljenje o mogućnosti korištenja orahovog lišća  
pri proizvodnji tvrdog ovčjeg sira

Radna grupa za donošenje znanstvenog mišljenja

(Zahtjev HAH - Z - 2010 -1)

Usvojeno 11. listopada 2010.

### ČLANOVI RADNE GRUPE

Zdenka Kalođera, Dubravka Samaržija, Jovica Hardi, Sandra Bašić, Darko Mikec

### SAŽETAK

Hrvatska agencija za hranu zaprimila je 23. travnja 2010. godine Zahtjev od Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja (KLASA: 310-26/10-01/4; URBROJ: 525-13-2-0495/10-2) od 19. travnja 2010. za donošenjem znanstvenog mišljenja o mogućnosti korištenja orahovog lišća pri proizvodnji sira. Slijedom zahtjeva formirana je radna grupa za donošenje znanstvenog mišljenja o mogućnosti korištenja orahovog lišća pri proizvodnji tvrdog ovčjeg sira, Radna grupa je prilikom procjene i pregleda dostupnih dokumenta, kao i konzultacijom sa stranim stručnjacima preko EFSA Focal Point mreže izradila traženo znanstveno mišljenje. Prema Pravilniku o sirevima i proizvodima od sireva (NN 20/09) mogućnost korištenja orahovog lišća nije zabranjena, a budući da je u zahtjevu navedeno kako je juglon visokotoksičan spoj, to su i bili razlozi zbog kojih je od Hrvatske agencije za hranu zatraženo znanstveno mišljenje.

Uzimajući u obzir raspoložive znanstvene i stručne dokumente, kao i informacije dobivene preko Focal Point mreže, radna grupa je zaključila kako upotreba orahovog lišća za proizvodnju tvrdog ovčjeg sira neće prouzročiti štetan učinak na zdravlje potrošača budući da svi dostupni toksikološki podaci ukazuju da juglon koji se nalazi u listovima nije štetan za zdravlje ljudi, te da se orahov list dugo godina koristio u narodnoj medicini i u kozmetičke svrhe. Osim juglona, orahovo lišće sadrži trjeslovine koje djeluju antimikrobno, flavonoide i veliki broj fenolkarboksilnih kiselina koje djeluju antioksidativno.

**KLJUČNE RIJEČI:** ovčji sir, orahovo lišće, juglon, 5-hidroksi-1,4-naftokinon

1 **SUMMARY**

2

3 The Croatian Food Agency (HAH) received a request from the Ministry of Agriculture, Fisheries and  
4 Rural Development (CLASS: 310-26/10-01/4; REF.NO: 525-13-2-0495/10-2; DATE OF RECEIVING:  
5 23 April 2010.) on 19 April 2010 to provide a scientific opinion on the possibility of using walnut  
6 leaves in cheese production. Following the request from the Ministry of Agriculture, Fisheries and  
7 Rural Development, a Working Group was formed by CFA's committee to adopt a scientific opinion on  
8 the possibility of using walnut leaves in production of hard sheep's cheese.

9 All available documents were peer reviewed and assessed by the Working Group and also foreign  
10 experts had been consulted through the EFSA Focal Point Network in order to provide the required  
11 scientific opinion.

12 Pursuant to Regulation on Cheese Production (HR) No 20/09 of 9 February 2009 the use of walnut  
13 leaves is not prohibited. This fact, and the statement that juglone is a toxic compound, were the  
14 reasons for requesting a scientific opinion from the Croatian Food Agency. Taking into account the  
15 available scientific and technical documents, as well as information obtained through the EFSA Focal  
16 Point Network, the working group concluded that walnut leaves used in production of hard sheep's  
17 cheese will not cause adverse health effects to consumers, since all available toxicological data  
18 indicate that juglone located in leaves is not harmful to human health. Furthermore, walnut leaf has  
19 been used for many years in folk medicine and for cosmetic purposes. Besides juglone, walnut leaves  
20 contain tannins, which have antimicrobial properties, flavonoids, and a number of phenolcarboxylic  
21 acids with antioxidant properties.

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36 **KEYWORDS:** sheep cheese, walnut leaves, juglone, 5-hydroxy-1,4-naphtoquinone

1	<b>TABLICA SADRŽAJA</b>	
2		
3	SAŽETAK .....	1
4	SUMMARY .....	2
5	POZADINA SLUČAJA .....	4
6	ZAHVALE .....	4
7	PROCJENA RIZIKA .....	5
8	1. IDENTIFIKACIJA OPASNOSTI .....	5
9	1.1. Zakonska regulativa. ....	5
10	1.2. Kratki tehnološki opis proizvodnje sira umotanog u orahovo lišće iz zahtjeva MPRRR-a. ....	6
11	2. KARAKTERIZACIJA OPASNOSTI .....	6
12	2.1. Fizikalno-kemijska svojstva juglona .....	6
13	2.2. Primjena orahovog lišća i djelovanje juglona .....	7
14	2.3. Toksičnost juglona .....	8
15	2.4. Toksikokinetika .....	8
16	2.4. Kancerogenost .....	9
17	2.6. Mutagenost.....	9
18	2.7. Teratogenost.....	9
19	RASPRAVA .....	10
20	ZAKLJUČCI .....	10
21	DOKUMENTACIJA DOSTAVLJENA HRVATSKOJ AGENCIJI ZA HRANU.....	11
22	LITERATURA (REFERENCE) .....	12
23	DODATAK 1 .....	14
24		
25		
26		
27		
28		
29		
30		
31		
32		
33		
34		
35		
36		
37		

## 1 POZADINA SLUČAJA

2

3 Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja zaprimilo je upit od proizvođača vezan uz  
4 proizvodnju posebne vrste tvrdog sira od ovčjeg mlijeka. Kako stoji u Zahtjevu MPRRR, posebnost  
5 proizvodnje navedenog proizvoda je da se isti prilikom zrenja omata u orahovo lišće kako bi dobio  
6 posebnu aromu. U zahtjevu je također navedeno da Pravilnikom o sirevima i proizvodima od sireva  
7 (NN 20/09), kojim su propisani zahtjevi kakvoće kojima u proizvodnji i stavljanju na tržište moraju  
8 udovoljavati i proizvodi od sireva, mogućnost korištenja orahovog lišća nije zabranjena. Nadalje se  
9 navodi da orahovo lišće sadrži visokotoksičan spoj juglon, čije korištenje može predstavljati opasnost  
10 po ljudsko zdravlje.

11 Uzimajući u obzir navode iz zahtjeva formirana je radna grupa za donošenje znanstvenog mišljenja  
12 koja je iste razmatrala i nakon pregleda dostupne literature, naknadno dostavljenih materijala na  
13 zahtjev radne grupe o tehnološkom postupku proizvodnje sira te stručnih i znanstvenih dokumenata  
14 kao i konzultacijom sa vanjskim stručnjacima preko EFSA Focal Point mreže donijela znanstveno  
15 mišljenje o mogućnosti korištenja orahovog lišća u proizvodnji tvrdog ovčjeg sira.

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

## 29 ZAHVALE

30

31 Hrvatska agencija za hranu zahvaljuje se članovima radne grupe, prof.dr.sc. Zdenki Kalodera;  
32 prof.dr.sc. Dubravki Samaržija i prof.dr.sc. Jovici Hardi na stručnoj pomoći prilikom izrade ovoga  
33 dokumenta.

34

35

36

## 1 PROCJENA RIZIKA

2

### 3 1. IDENTIFIKACIJA OPASNOSTI

4

5 Prilikom izrade znanstvenog mišljenja korištena je dostupna znanstveno – stručna literatura. Putem  
6 EFSA Focal Point mreže za razmjenu znanstvenih podataka očitovali su se predstavnici 11 zemalja  
7 članica EU, pri čemu jedino Italija i Španjolska imaju iskustva s ovakvim načinom proizvodnje sira.

8 U Italiji se tradicionalno proizvodi sir od ovčjeg ili kravljeg mlijeka koji se umata u orahovo lišće  
9 (*Nocino*) te bez obzira na juglon nije uočen niti prijavljen bilo kakav toksični učinak na zdravlje  
10 potrošača.

11 Na sjeveru Španjolske, u pokrajini Asturiji, tradicionalno se proizvodi plavi sir koji se umata u listove  
12 oraha i naziva se *Cabrales*. Uglavnom se proizvodi od kravljeg mlijeka, ali se može dodati i ovčje ili  
13 kozje mlijeko zbog promjene u okusu. Međutim, nakon savjetovanja sa španjolskim regulatornim  
14 Vijećem za tradicionalne proizvode, proizvodnja ovakvog sira je zabranjena zbog nepridržavanja  
15 higijenskih zahtjeva prilikom proizvodnje te zbog moguće prijevare potrošača (Dodatak 1).

16 Vezano uz proizvodnju sira u Italiji, grupa autora (1) je tijekom 2002. – 2003. godine opisala korištenje  
17 96 biljnih vrsta za pripremu hrane i prirodnih lijekova korištenih u narodnoj medicini s područja  
18 Acquapedente (Viterbo, Latium, središnja Italija). Spomenute biljne vrste potječu od 45 porodica od  
19 kojih se 64 koriste u humanoj medicini, 15 u veterinarstvu, 22 u prehrani domaćih životinja, 5 imaju  
20 antiparazitska svojstva i 5 se koriste za ostale svrhe. Autori ističu kako se orahov list (*Juglans regia* –  
21 naziv u dijelektu – *Noce*) šezdesetih i sedamdesetih godina koristio prilikom proizvodnje sireva pri  
22 čemu se sir omatao u lišće oraha. Listovima koji sadrže juglon, eterično ulje, elagičnu i galnu kiselinu  
23 te flavonoide, sirevi su bili zaštićeni od prašine i parazita. Također navode podatak da se ovaj  
24 postupak koristio i kako bi se spriječila kontaminacija sira sirnom grinjom (*Tyrophagus casei*). Ova  
25 metoda se još uvijek koristi za proizvodnju "Pecorino sira iz Pienza" (Siena okrug).

26

#### 27 1.1. Zakonska regulativa

28

29 Prilikom izrade znanstvenog mišljenja pregledana je slijedeća zakonska regulativa u Republici  
30 Hrvatskoj:

- 31 1. Zakon o hrani (NN 46/07) (2);
- 32 2. Pravilnik o higijeni hrane (NN 99/07) (3);
- 33 3. Pravilnik o higijeni hrane životinjskog porijekla (NN 99/07) (4);
- 34 4. Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu (NN 74/08) (5);
- 35 5. Pravilnik o sirevima i proizvodima od sireva (NN 20/09) (6);
- 36 6. Pravilnik o dodacima prehrani (NN148/08) (7);

1 Navedeni propisi, kao ni Europsko zakonodavstvo, ne propisuju prisutnost juglona u siru.

2

3 **1.2. Kratki tehnološki opis proizvodnje sira umotanog u orahovo lišće iz zahtjeva MPRRR-a**

4

5 - dobiven na zahtjev radne grupe od Tehnološko – inovacijskog centra Rijeka:

6

7 • u proizvodnji sira koristiti se kravlje, ovčje, kozje mlijeko te njihove mješavine s različitim  
8 udjelima pojedinih vrsta mlijeka

9 • sirevi se proizvode iz sirovog i pasteuriziranog mlijeka

10 • u proizvodnji sira koristi se industrijsko sirilo i komercijalna mikrobna kultura

11 • minimalno vrijeme zrenja je 2 mjeseca

12 • za zaštitu kore sira koristi se svježe orahovo lišće

13 • omatanje sira orahovim lišćem vrši se višekratno: prvi puta se sir omata nakon salamurenja,  
14 a nakon toga se postupak omatanja sira u orahovo lišće ponavlja sve dok ne poprimi  
15 karakterističnu aromu i boju površine.

16

17 **2. KARAKTERIZACIJA OPASNOSTI**

18

19 **2.1. Fizikalno-kemijska svojstva juglona (8)**

20

21 Ime prema nomenklaturi IUPAC-a: 5-hidroksi-1,4-naftokinon

22 Sinonimi naziva: 5-hidroksi-1,4-naftalendion; 5-hidroksinaftokinon; juglon; regianin; ekstrakt oraha

23 Struktura molekule: dvostruki prsten; naftokinon (derivat naftalena)

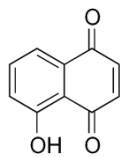
24 Strukturna formula:

25

26

27

28



29

30 Empirijska formula:  $C_{10}H_6O_3$

31 Molekularna masa: 174.16 g/mol

32 Izgled i način dobivanja: žuti igličasti kristali dobiveni adicijom benzena i petrol etera; daju ljubičasto-  
33 crvenu boju otopine u vodenoj otopini alkalija

34 Točka tališta: 155°C

35 Topljivost: Slabo topiv u vrućoj vodi; topiv u alkoholu, acetonu, kloroformu, benzenu i octenoj kiselini

36 Izoliranog ga je moguće dobiti s čistoćom od 95% (Fluka and Aldrich) i 97% (Sigma-Aldrich, 1999).

1 Uvidom u fizikalno-kemijske karakteristike juglona nalazimo da je poput ostalih aromatskih  
2 ugljikovodika izrazito topiv u organskim otapalima te da samim time pokazuje nestabilnost i  
3 nepostojanost u nekim većim koncentracijama kada se izloži oksidativnom djelovanju okolne  
4 atmosfere.

5

## 6 **2.2. Primjena orahovog lišća i djelovanje juglona**

7

8 Smatra se da se orah najprije počeo uzgajati u Kini odakle se preko Japana, Indije, Perzije i Grčke  
9 proširio i na Europu te ostatak svijeta jer je primjena juglona iz listova i kore nedozrelog ploda poznata  
10 u Kini dugi niz godina pri čemu se primjenjivao u terapijske svrhe kod liječenja tumora želuca, jetre,  
11 pluća te ostalih vrsta tumorskih oboljenja. Iako je rana primjena lijekova na bazi juglona bila empirijske  
12 naravi, danas je veliki broj istraživanja usmjeren upravo na proučavanje i definiranje mehanizama  
13 kojima naftokinoni, pa tako i juglon, utječu na rast stanica i proizvodnju antitumorskih lijekova (9, 10,  
14 11, 12).

15 List oraha, *Juglans regia* L. (porodica Juglandaceae) osim juglona (5-hidroksi-1,4 naftokinon) koji  
16 uvijek dolazi kao monoglikozid sadržava elagne trjeslovine (9-10%) koje kao i juglon djeluju  
17 antimikrobno, flavonoide 3,4% i veliki broj fenolkarbonskih kiselina koji imaju antioksidativni učinak,  
18 te eterično ulje i askorbinsku kiselinu (13,14,15,16).

19 List oraha upotrebljava se tradicionalno u kupkama kod kožnih oboljenja. Interno se primjenjuje kod  
20 gastrointestinalnih tegoba (katar crijeva), kao antidijarij i kao anthelmintik. Interna primjena je kao  
21 adjuvans 1-3 puta dnevno u obliku čaja. Zbog visokog sadržaja trjeslovina i sadržaja juglona  
22 upotrebljava se kratkotrajno (17,18). Listovi oraha tradicionalno imaju primjenu za bojenje kose (uz  
23 kanu) zbog juglona koji izaziva tamnjenje, a primjenjivao se i za izazivanje tamnjenja kože.

24 Također je važno istaknuti da je list oraha (*Juglandis folium*) odobren za upotrebu od strane Njemačke  
25 Komisije E, kao nacionalnog regulatornog tijela za evaluiranje i reguliranje bilja i biljnih vrsta koje se  
26 mogu koristiti u medicinske svrhe, za eksternu upotrebu kod upala na koži ili pretjeranog znojenja ruku  
27 i nogu (19).

28 Juglon je prirodni naftokinon koji se nalazi u korijenu, svježim listovima, ljusci, kori i drvetu  
29 Mandžurijskog oraha (*Juglans mandshurica*), američkog oraha (*Juglans nigra*), oraha (*Juglans regia*) i  
30 bijelog oraha (*Juglans cinerea*).

31 Poznato je da se u svježim listovima oraha juglon nalazi u količini od 0,6% dok je kod starijih listova  
32 prisutan u tragovima (16,17).

33 Juglon je nestabilan i lako polimerizira pri čemu nastaje smeđa pigmentacija listova (14,15).

34 Juglon također posjeduje antibakterijski i fungicidni učinak (20, 22).

1 Već je ranije navedeno kako je kroz dugogodišnju primjenu orahovog lišća izloženost juglonu bila  
2 uglavnom u vidu eksterne primjene, putem kože, bilo da se koristila u obliku obloga ili utrljavanjem u  
3 kožu, ili preko kose, u vidu boja za kosu.

4 Od 1997. godine proizvođač biljnih pripravaka iz SAD-a, *Viable Herbal Solutions*, proizvodi dodatak  
5 prehrani na bazi lista američkog oraha koje se koristi ili oralno kao razrijeđena otopina ili eksterno,  
6 nanošenjem na kožu, sa svrhom liječenja akni, alergija, lošeg mirisa tijela, konstipacije, umora,  
7 gastrointestinalnih tegoba, glavobolje, hemeroida, upalnih stanja na koži itd. (8).

8

### 9 2.3. Toksičnost juglona

10

11 Toksična svojstva juglona utvrđena su za *Angiosperme*, gljive i ribe (21).

12 Podaci o akutnoj toksičnosti za izolat juglona 95 – 97%-tne čistoće na laboratorijske životinje prikazani  
13 su u tablici 1 (8).

14

15 *Tablica 1: Podaci o akutnoj toksičnosti za juglon*

Putovi unosa	Vrsta	LD50 (mg/kg)	Reference
Oralno	Miš	2.5 mg/kg	Westfall et al., 1961
Oralno	Štakor	112 mg/kg	NLM, 1999a
Intraperitonealno (ip)	Miš	25 mg/kg	NLM, 1999a

16

17 Nadalje, prilikom intravenoznog davanja juglona psima u količini od 5 mg/kg došlo je do vidljivog  
18 krvarenja pluća, koje je najvjerojatnije povezano s povećanom kapilarnom propusnošću. Budući da  
19 nije bilo značajnih promjena u EKG-u, brzini rada srca i krvnom tlaku, zaključeno je kako juglon nema  
20 direktan utjecaj rad srčano-žilnog sustava (8).

21 Također treba napomenuti da se juglon ne nalazi na listi toksičnih tvari (TSCA) američke Agencije za  
22 zaštitu okoliša (EPA) (8).

23 Pregledom dostupne literature nisu pronađeni podaci koji govore o granici dnevnog unosa juglona za  
24 ljude oralnim putem, odnosno podaci o njegovoj toksičnosti.

25

### 26 2.4. Toksikokinetika

27

28 Pregledom dostupne literature ustanovljeno je da nema podataka o toksikokinetici juglona u ljudskom  
29 organizmu.

30

31

32



## 1 2.5. Kancerogenost

2

3 U dostupnoj literaturi nema epidemioloških studija niti izvješća koja ukazuju na povezanost izloženosti  
4 juglonu s rizikom pojave tumora kod ljudi.

5 Međutim, postoje istraživanja o utjecaju juglona na različite vrste tumora u humanim stanicama *in vitro*  
6 te ona pokazuju dobre rezultate koji idu u prilog razvoju lijekova protiv tumora na bazi juglona.

7 Tako je, primjerice, grupa autora sa dva razvojno istraživačka centra iz Kine ustanovila kako juglon  
8 inducira apoptozu u humanim stanicama tumora želuca SGC-7901 preko mitohondrijskih proteina (9).

9 Druga je grupa autora dokazala pozitivan utjecaj juglona na humane stanice leukemije HL-60 (10),  
10 dok su znanstvenici sa američkog sveučilišta Wisconsin-Madison School of Medicine and Public  
11 Health dokazali na pokusnim životinjama da terapija juglonom selektivno inhibira eozinofilnu i  
12 limfocitnu upalu kada su oni podvrgnuti eksperimentalnoj plućnoj fibrozi (11).

13

## 14 2.6. Mutagenost

15

16 Nema dostupnih podataka koji bi ukazivali na mutageno djelovanje juglona odnosno na  
17 genotoksičnost u ljudi. Ipak postoji nešto informacija o genotoksičnosti hidroksi derivata naftokinona  
18 dobivenih na temelju studija na bakterijskoj vrsti *Salmonella Typhimurium* koje su provedene na tri  
19 soja ove bakterijske vrste. Zaključci tih studija bili su da su hidroksi-derivati naftokinona, kada su bili  
20 metilirani na poziciji C2, pospješivali mutagenost kod dva soja *Salmonelle Typhimurium*, dok kod  
21 trećeg soja nije bila izražena mutagenost. Također je uočeno smanjenje učinaka mutagenosti kada su  
22 derivati naftokinona bili metilirani u poziciji C7 (8).

23

## 24 2.7. Teratogenost

25

26 Nema dostupnih podataka koji bi ukazivali na oštećenje ploda maternice unosom juglona putem hrane  
27 tijekom trudnoće.

28

29

30

31

32

33

34

35

36

## 1 RASPRAVA

2

3 U zahtjevu MPRRR-a navedeno je kako je juglon visokotoksičan spoj, što je i bio razlog zbog kojeg je  
4 od Hrvatske agencije za hranu zatraženo donošenje znanstvenog mišljenja o mogućnosti korištenja  
5 orahovog lišća pri proizvodnji sira.

6 Pregledom dostupnih znanstvenih i stručnih podataka kao i podataka razmijenjenih preko EFSA Focal  
7 Point mreže, može se zaključiti da je juglon visokotoksičan spoj za određene vrste biljaka, ali da ne  
8 postoje dostupni podaci koji bi govorili o njegovoj toksičnosti za ljude, pa samim tim i opasnosti po  
9 zdravlje ljudi.

10 Kako nema dostupnih podataka o kancerogenosti, mutagenosti i teratogenosti juglona kod ljudi nije se  
11 išlo u daljnje korake procjene rizika.

12 Osim toga, podaci o tradicijskoj proizvodnji sira na području Italije i Španjolske pokazali su da  
13 konzumacija sira proizvedenog omatanjem u orahovo lišće nije imala štetan učinak po zdravlje  
14 konzumenata te da je u Španjolskoj proizvodnja ovakvog sira zabranjena zbog nepridržavanja  
15 higijenskih zahtjeva prilikom proizvodnje i moguće prijevare potrošača, a ne zbog štetnosti po  
16 zdravlje.

17 Prilikom izrade ovog znanstvenog mišljenja evaluirana je samo opasnost juglona po zdravlje ljudi ali  
18 ne i sam način tehnološkog procesa proizvodnje sira s higijenskog stajališta, budući da je obveza  
19 svakog subjekta u poslovanju s hranom da konačni proizvod mora udovoljavati čl. 14. Zakona o hrani  
20 (NN 46/07), te važećim vezanim pravilnicima.

21

## 22 ZAKLJUČCI

23

24 Na osnovi pregledane znanstvene i stručne literature, prikupljenih informacija putem EFSA Focal  
25 Point mreže, pregleda vezane legislative u Republici Hrvatskoj i EU, te svih ostalih dokumenata i  
26 informacija korištenih prilikom izrade ovoga dokumenta radna grupa donijela je znanstveno mišljenje,  
27 temeljem kojeg Znanstveno vijeće zaključuje da:

28

- 29 • nema dostupnih podataka o kancerogenosti, mutagenosti i teratogenosti juglona kod ljudi
- 30 • u Republici Hrvatskoj ne postoje propisi koji zabranjuju proizvodnju sira omotanog u orahovo  
31 lišće
- 32 • proizvođač koji je uputio zahtjev za korištenje orahovog lišća može koristiti orahovo lišće u  
33 svojoj proizvodnji s tim da na deklaraciji proizvoda naznači da je koristio orahovo lišće koje  
34 sadrži juglon

35

36

1 **DOKUMENTACIJA DOSTAVLJENA HRVATSKOJ AGENCIJI ZA HRANU**

2

3 1. Zahtjev Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja za donošenje znanstvenog  
4 mišljenja za predmet – Mogućnost korištenja orahovog lišća pri proizvodnji sira.

5

6 2. Izvješće o rezultatima pretraživanja: R-10631/2009 izdano od strane Veterinarskog zavoda  
7 Rijeka-Laboratorij za mikrobiologiju hrane i stočne hrane

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

1 LITERATURA (REFERENCE)

- 2
- 3 1. Paolo Maria Guarrera,, Gianluca Fortib, Silvia Marignolib: *Ethnobotanical and ethnomedicinal*
- 4 *uses of plants in the district of Acquapendente (Latium, Central Italy)*; J of Ethnopharmacology;
- 5 96: 429 – 444, 2005;
- 6 2. Zakon o hrani (NN 46/07)
- 7 3. Pravilnik o higijeni hrane (NN 99/07)
- 8 4. Pravilnik o higijeni hrane životinjskog porijekla (NN 99/07)
- 9 5. Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu (NN 74/08)
- 10 6. Pravilnik o sirevima i proizvodima od sireva (NN 20/09)
- 11 7. Pravilnik o dodacima prehrani (NN148/08)
- 12 8. Summary of data for chemical selection - juglone 481-39-0; Prepared by Technical Resources
- 13 International, Inc., under contract No. NO-2-CB-50511 (5/99)
- 14 9. Yu-Bin Ji, Zhong-Yuan Qu, Xiang Zou: *Juglone-induced apoptosis in human gastric cancer SGC-*
- 15 *7901 cells via the mitochondrial pathway*; Experimental and Toxicologic Pathology 4, 2009
- 16 10. Hua-Li Xu at al: *Anti-proliferative effect of Juglone from Juglans mandshurica Maxim on human*
- 17 *leukemia cell HL-60 by inducing apoptosis through the mitochondria-dependent pathway*, EJ of
- 18 Pharmacology, 2010 (article in press)
- 19 11. Sharon Reese: *The Pin 1 inhibitor juglone attenuates kidney fibrogenesis via Pin 1-*
- 20 *independent mechanism in the unilateral ureteral occlusion model*; Fibrogenesis and Tissue
- 21 Repair; 3, 1 -8, 2010.
- 22 12. Michelle T. Paulsen, Mats Ljungman: *The natural toxin juglone causes degradation of p53*
- 23 *and induces rapid H2AX phosphorylation and cell death in human fibroblasts*; Toxicology and
- 24 Applied Pharmacology, 209, 1 – 9, 2005
- 25 13. Danica Kuštrak: FARMAKOLOGIJA – FITOFARMACIJA, Zagreb, Golden marketing-
- 26 Tehnička knjiga, 2005 (450)
- 27 14. H. Wagner, Pharmazeutische Biologie - Drogen und ihre Inhaltsstoffe, Gustav Fischer Verlag –
- 28 Stuttgart – New York – 1988 (271).
- 29 15. KOMMENTAR zur PHARMACOPOEA HELVETICA , Editio Quinta, Zurich 1947 (410-411)
- 30 16. N.G.Bisset, Max Wichtl: Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals, Medpharm, Stuttgart 2002,
- 31 281-282.
- 32 17. Katja Toplak Galle: Hrvatsko ljekovito bilje, Mozaik knjiga Zagreb, 2001 (138-139).
- 33 18. H.Wagner/M. Wiesenauer: PHYTOTHERAPIE (Phytopharmaka und pflanzliche
- 34 Homöopathika), Gustav Fischer Verlag; Gustav Fischer Verlag Stuttgart-Jena-New York 1995
- 35 (316)

- 1 19. [http://books.google.hr/books?id=Q8YOxB6jXsIC&pg=PA399&lpg=PA399&dq=german+commi-](http://books.google.hr/books?id=Q8YOxB6jXsIC&pg=PA399&lpg=PA399&dq=german+commission+e+walnut+leaves&source=bl&ots=LisoHDHal7&sig=GJK5X6FfqxqXz-i1TLBBpG33b7w&hl=hr&ei=bx1-TJy3JcGDswafkv2VCQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=7&ved=0CDcQ6AEwBg#v=onepage&q=walnut%20&f=false)  
2  [4  \[6 20. Jean BRUNETON: Pharmacognosy, Phytochemisdtry, Medicinal Plants, 2nd Edition \\(1999\\)  
7 21. R. Hegnauer: CHEMOTAXONOMIE DER PFLANZEN, Band 8, Birkhauser Verlag , Basel –  
8 Boston – Berlin; 1989 \\( 575\\).  
9 22. Petr Babula at al: \\*Naphthoquinones as allelochemical triggers of programmed cell death;\\*  
10 Environmental and Experimental Botany, 65, 330 – 337, 2009  
11  
12  
13\]\(http://books.google.hr/books?id=Q8YOxB6jXsIC&pg=PA399&lpg=PA399&dq=german+commi-</a><br/>5 <a href=\)](http://books.google.hr/books?id=Q8YOxB6jXsIC&pg=PA399&lpg=PA399&dq=german+commi-</a><br/>3 <a href=)

## 1 DODATAK 1

2

3 Odgovori putem Focal Point mreže za razmjenu znanstvenih podataka

4

CIPAR	In relation to the below stated subject, I would like to inform you that we don't have any information about the production of sheep milk cheese in nut leaves.
FRANCUSKA	After we consulted our RA unit which could have had hints on your query, I am sorry to say that we don't have any information on the topic, since we never met the issue of nut tree leaves to wrap sheep cheese.
ITALIJA	<p>-I am not a cheese or walnut expert and I do not have any information about research on cheese wrapped in nut leaves but in Italy we have typical cheese called nocino which is made by sheep milk wrapped in walnut leaves. Considering that walnut leaves contain juglone I can send you two papers addressing the property of this molecule. You should consider that cheese tradition in Italy is quite ancient and no immediately toxic effect has been reported in consumers of these leaves wrapped cheeses so far , but in my knowledge no real scientific studies have been reported.</p> <p>-In Italy there are some type of sheep and goat cheeses in nut and other types of leaves wrapped.</p> <p>This kind of production is permitted.</p> <p>I send You two SK that You can find in the web site: <a href="http://www.ars-alimentaria.it">www.ars-alimentaria.it</a></p> <p>- we have developed a PCR baed method which distinguishes sheep to other cheese unambiguously. Could this be useful for solving the problem?</p>
LITVA	Lithuania hasn't any experience about practice on production of sheep milk cheese in nut leaves.

PORTUGAL	<p>Answering your question, we hereby inform you that in Portugal there is no such process. We does not mature cheese wrapped in nut leaves or in another kind of leaf.</p> <p>As we understand, in Portugal there are no studies on this subject.</p>
SLOVAČKA	<p>In response to your request concerning sheep milk cheese wrapped in nut leaves, we are sorry to inform you, that we have not received any specific information from our experts. This is due to the fact that we haven't got any experience with production of this type of cheese in our country, therefore we cannot provide any specific scientific opinion on this topic.</p>
ŠPANJOLSKA	<p>From the information I have offhand, in Spain there is only one type of cheese that used to be wrapped in tree leaves (<i>Acer pseudoplatanus</i>; probably also from the walnut tree, <i>Castanea sativa</i>). That is the <b>Cabrales cheese</b>, from Asturias (northern Spain), a blue cheese made mostly of cow milk, though it is allowed to add some sheep and goat milk for the flavour sake.</p> <p>However, after consultation of the Regulatory Council of this traditional product (<a href="http://www.quesocabrales.org/">http://www.quesocabrales.org/</a>; sorry, only in Spanish), this practice is not allowed anymore because of sanitary reasons and they discourage consumers from buying cheeses wrapped this way, since they may not be compliant with the hygiene exigencies and may also be victims of fraud, since it is easy to disguise another type of blue cheese in walnut leaves and sell it as Cabrales, a top quality product.</p>
ŠVICARSKA	<p>Although we have a lot of cheese in Switzerland, a request concerning the use of nut leaves for the production of cheese is not known to our team. On the other hand we received the request for using fir needles as a hull for cheese; this has been allotted under certain conditions.</p> <p>I know that the use of leaves (figs, wine, walnut) as a hull for cheese is common in Italy and Spain, here some names of goat or sheep cheese hulled into leaves:</p> <p><b>PECORINO "Foglia de Noce"</b> (Sheep's milk cheese packed in walnut</p>

	<p>leaves) , <b>Robiola Castagna</b> (goat cheese in chestnut leaves) , <b>Caciottone di capra foglie</b> (goat cheese in nut leaves, see <a href="http://www.formaggiavini.it/index.php?page=prodotti&amp;tipo=3&amp;prodotto=43">http://www.formaggiavini.it/index.php?page=prodotti&amp;tipo=3&amp;prodotto=43</a> ), <b>Nocino</b> (sheep's cheese ripened under hazelnut leaves), <b>Sottoinoce</b> (sheep's cheese ripened under nut leaves), <b>Pecorino del Contadino</b> (sheep's cheese ripened on nut leaves), <b>Pecorino toscano "Monte Paco"</b> (sheep's cheese ripened on walnut leaves), <b>Testun alle nocce</b> (cheese made of cows, goat and sheep's milk, ripened on nut leaves), „<b>Nusser</b>“ ripened in nut leaves, „<b>Nussiler</b>“ in walnut leaves, <b>ROBIOLA DI ROCCAVERANO</b> (goat's milk, ripened in fig leaves), <b>CAPRINO NOCE</b> (goat's milk, ripened in nut leaves),</p> <p>My colleague Ursula provided me with further information concerning the use of nut leaves as food, there are books published by the Council of Europe concerning the use of plants as flavorings.</p> <p>In the older version of such a book, the title is "Flavoring substances and natural sources of flavoring", the walnut is in the category "N3", which means that it may be used as flavor. The use of a little bit of leaves for cheese seems therefore to be ok.</p> <p>In the new version of the book (see attachment), the hazel nut is in category 5. This means that the amount of leaves used is limited and the producer of such a cheese has to provide an expert opinion concerning the toxicology of the nut product used.</p>
NJEMAČKA	We don't have any information about this kind of product in our institute.
FINSKA	Thank you for your question. From Finland we unfortunately don't have information you asked.
NIZOZEMSKA	This mail is to inform you that in the Netherlands we have no information concerning sheep milk cheese wrapped with nut leaves.